

Kraków, 10.1.2020



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
COLLEGIUM
MEDICUM

OPINIA O PRACY DOKTORSKIEJ

pt.: *Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy czujników zapachu*
mgr. Tomasza Wasilewskiego
doktoranta w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej
Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

Wydział

Farmaceutyczny

W 2004 r. nagrodą Nobla zostały uhonorowane wyniki badań amerykańskich badaczy Axel i Buck, którzy przy użyciu technik biologii molekularnej rozszyfrowali mechanizm działania - pierwszego spośród narządów zmysłów człowieka - zmysłu węchu. Nobliści stwierdzili, m.in. że duża część receptorów zapachu należy do tzw. receptorów wiążących białko G, a każdy z tych receptorów posiada łańcuch aminokwasowy zakotwiczony w błonie komórkowej. Konformacja przestrzenna takiego łańcucha tworzy tzw. kieszeń wiążącą, z którą oddziałuje odorant, inicjując aktywację białka G i powodując wyzwolenie sygnału elektrycznego, przekazywanego do mózgu za pośrednictwem szlaków nerwowych.

Katedra

Technologii

Postaci Leku

i Biofarmacji

Z tymi zagadnieniami są ściśle związane zainteresowania badawcze Pana mgr. Tomasza Wasilewskiego, ukierunkowane na rozwój nowoczesnych narzędzi analitycznych, stanowiących sztuczne narządy zmysłów. Ambitnym celem, który postawił sobie Doktorant w opiniowanej rozprawie doktorskiej było zaprojektowanie; synteza i ocena właściwości peptydowych biomateriałów z myślą o ich potencjalnym zastosowaniu w selektywnych układach sensorycznych typu sztuczny nos.

Zasada działania takich biosensorów polega na odwzorowaniu w warunkach *in vitro*, fizjologicznych zjawisk, towarzyszących odczuwaniu zapachu przez organizmy żywe. Odorant oddziałuje na matrycę biocujników, będących analogami naturalnego receptora (przetwornik pierwszorzędowy), a wygenerowany sygnał jest przekazywany do elementów elektronicznych, stanowiących tzw. przetwornik drugorzędowy. W ten sposób po wzmocnieniu i przetworzeniu sygnału generowany jest wynik.

ul. Medyczna 9

PL 30-688 Kraków

tel. +48(12) 62 05 600

fax: +48(12) 62 05 619

tpl@farmacja.cm-uj.krakow.pl

Pan mgr. Tomasz Wasilewski w swojej rozprawie doktorskiej podjął próbę optymalizacji metody osadzania peptydowych warstw receptorowych na przetworniku drugorzędowym oraz dokonał oceny podstawowych parametrów metrologicznych skonstruowanych bioczuJNIKÓW. Sekwencja peptydów w warstwie receptorowej została zaprojektowana tak, aby zagwarantować jej specyficZNOŚĆ wobec modelowych ligandów z grupy aldehydów średnio- i długołańcuchowych. Realizacja założeń badawczych obejmowała trzy główne etapy:

1. Projektowanie sekwencji peptydów, odwzorowującej miejsce wiązania ligandu z białkiem *HarmOBP7*, typowym dla receptorów zapachu u owadów oraz symulacje powinowactwa modelowych ligandów do receptora przy zastosowaniu metod obliczeniowych.
2. Synteza peptydów i ich osadzanie na przetwornikach drugorzędowych typu mikrowagi kwarcowej (QCM).
3. Ocena bioczuJNIKÓW pod względem, m.in. czułości, selektywności, granicy wykrywalności (LOD), stabilności, powtarzalności, czasu odpowiedzi.

Wyniki uzyskane podczas realizacji ww. założeń badawczych wraz z przeglądem najnowszego piśmiennictwa, dotyczącego czuJNIKÓW zapachu, stanowią istotny wkład w powiązany tematycznie cykl pięciu publikacji z lat 2017-2019, który jest podstawą do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora przez Pana mgr. Tomasza Wasilewskiego. Przedłożona do oceny rozprawa doktorska stanowi omówienie – przewodnik, w którym Doktorant przedstawił, w skróconej formie, najważniejsze informacje opisane szczegółowo w załączonych publikacjach. Dwie prace poglądowe wprowadzają czytelnika w podstawy teoretyczne i opisują stan wiedzy w zakresie bioczuJNIKÓW zapachu. W trzech artykułach oryginalnych, Doktorant przedstawia wyniki swoich prac eksperymentalnych.

Całokształt wyników, ujętych w przedstawionej do oceny dysertacji, jednoznacznie dowodzi, że przedsięwzięcie badawcze jakiemu stawił czoło Doktorant, zakończyło się dużym sukcesem publikacyjnym. Sumaryczny współczynnik oddziaływania opiniowanych artykułów wynosi 25,179. Z tego na prace poglądowe przypada 15,911 (średni IF = 7,956), a prace oryginalne stanowią 9,268 (średni IF = 3,089). Co istotne, Doktorant jest autorem pierwszym i korespondencyjnym we wszystkich pięciu pracach. Oświadczenia współautorów wskazują na wiodący udział Pana mgr. Tomasza Wasilewskiego w ich powstaniu, który wynosi od 45 do 80% i dotyczy opracowania koncepcji prac, realizacji części doświadczalnej i redakcji manuskryptów.

W pracach poglądowych, Doktorant opisuje aktualny stan wiedzy i perspektywy rozwoju bioelektrycznego nosa oraz charakteryzuje biomateriały, które zostały opracowane z myślą o skonstruowaniu selektywnych bioelektronicznych czujników zapachu. Każda z prac poglądowych jest bardzo rzetelnie opracowana i opiera się na dokładnej analizie średnio 200 pozycji z piśmiennictwa. Na uwagę zasługuje zwłaszcza pierwsza praca poglądowa, opublikowana *on-line* na stronie internetowej czasopisma *Biosensors and Bioelectronics* w drugiej połowie 2016 r. Mimo, że praca nie jest powszechnie dostępna w ramach tzw. otwartego dostępu - *Open Access*, na dzień opracowania niniejszej opinii wg bazy *Scopus*, artykuł był cytowany ponad 50-krotnie, co uważam za wynik bardzo dobry.

Pierwsza praca oryginalna dotyczy określenia sekwencji aminokwasów, odpowiedzialnej za wiązanie aldehydów w warstwie receptorowej przy zastosowaniu modelowania *in silico*, syntezy wyselekcjonowanego peptydu oraz optymalizacji metod immobilizacji syntetycznego peptydu na powierzchni przetwornika drugiego rzędu (QCM), a w końcu oceny parametrów metrologicznych bioczujnika względem aldehydu octowego. Tematem drugiej pracy oryginalnej jest analiza wpływu długości łańcucha peptydowego na powinowactwo warstwy receptorowej do modelowych aldehydów, np. oktalanu oraz korelacji wyników badań *in silico* z danymi eksperymentalnymi. W trzeciej pracy oryginalnej, Doktorant opisał konstrukcję bioczujnika, w którym element receptorowy stanowił peptyd zbudowany z sekwencji 17 aminokwasów oraz wykazał jego przydatność do detekcji średnio- i długołańcuchowych aldehydów alifatycznych w testowych mieszaninach gazów.

Wszystkie ww. prace mają wysoką wartość poznawczą i wnoszą oryginalne rozwiązania przydatne do opracowania syntetycznych, peptydowych czujników zapachu. Podkreślić należy, że wszystkie artykuły zostały opublikowane w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, które znajdują się na liście *Journal Citation Reports (JCR)*. Według rankingu JCR, czasopismo *Biosensors and Bioelectronics* (Wyd. Elsevier), w którym opublikowano pierwszy artykuł poglądowy, znajduje się w kwartylu Q1 aż w pięciu kategoriach, to jest m.in. chemia analityczna, elektrochemia, biotechnologia i mikrobiologia stosowana. Drugi artykuł poglądowy, Doktorant opublikował na łamach *Sensors and Actuators B: Chemical* (Wyd. Elsevier). Czasopismo to znajduje się w kwartylu Q1 w trzech kategoriach, tj. chemia analityczna, elektrochemia, aparatura i oprzyrządowanie.

Dwa artykuły oryginalne, w których Doktorant opisał eksperymentalną część pracy zostały opublikowane w czasopiśmie *Sensors* (Wyd. MDPI), które w rankingu JCR plasuje

się w kwartylu Q1 w kategorii aparatura i oprzyrządowanie oraz w kwartylu Q2 w kategorii chemia analityczna i elektrochemia. Podobnie trzeci artykuł oryginalny został opublikowany w czasopiśmie *Microchemical Journal* (Wyd. Elsevier), które wg JCR zaliczane jest do kwartylu Q1 w kategorii chemia analityczna.

Samo opublikowanie prac na łamach tak znakomitych czasopism, zasługuje na wyróżnienie. Świadczy to o oryginalności i aktualności tematyki badawczej oraz bardzo wysokim poziomie badań, który nie wymaga dodatkowego komentarza, biorąc pod uwagę przychylne opinie międzynarodowych ekspertów z jakimi te prace spotkały się na etapie recenzji.

Publikowanie prac w renomowanych czasopismach, wymaga od naukowca bardzo dobrego przygotowania merytorycznego, które trzeba docenić zwłaszcza w odniesieniu do badań interdyscyplinarnych. Znajduje ono odzwierciedlenie w starannie opracowanym przewodniku. Układ przewodnika jest przemyślany, a procedury badawcze zostały opisane w bardzo przystępny sposób. Czytelne ryciny i liczne odniesienia do publikacji z przedmiotowego cyklu, ułatwiają orientację w tekście. Mimo dużej ilości danych eksperymentalnych, najważniejsze osiągnięcia zostały wyraźnie wyeksponowane, a ich nowatorstwo w odniesieniu do istniejącego stanu wiedzy nie budzi żadnych wątpliwości.

Ciekawi mnie natomiast, jakie ograniczenia w dalszym rozwoju bioczujników zapachu, Doktorant uważa za najistotniejsze i w jaki sposób można im zapobiec? Jaka ilość czujników powinna znaleźć się, w przyszłości, w matrycy prototypu sztucznego nosa i jakiej wielkości może być taka matryca?

Postawione pytania nie umniejszają w żaden sposób wysokiej wartości niniejszej rozprawy, a jedynie mają zachęcić do naukowego dyskursu.

Po przeczytaniu przewodnika oraz załączonych publikacji, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że Pan mgr. Tomasz Wasilewski potrafi zaplanować i samodzielnie wykonać ciekawy, interdyscyplinarny eksperyment naukowy, skutecznie współpracując z krajowymi jednostkami zewnętrznymi. Jednocześnie, mając możliwość pracy pod kierunkiem Pana prof. dr hab. n. farm. Wojciecha Kamysza i Pana dr hab. inż. Jacka Gębickiego, prof. PG - uznanych i rozpoznawalnych w naukowym świecie specjalistów w zakresie odpowiednio: chemii peptydów oraz konstruowania sztucznych narządów zmysłów - Doktorant nabył unikalnych umiejętności, opracowania syntetycznych peptydów o oryginalnym zastosowaniu.

Słowa uznania kieruję w tym miejscu do obu Promotorów, gratulując sukcesu naukowego we wspólnej realizacji ciekawego eksperymentu, którego wyniki mogą w przyszłości, przyczynić się do opracowania pierwszych prototypów, polskiego sztucznego nosa, w którym matryca złożona z syntetycznych peptydów będzie odpowiadała za selektywną detekcję zapachu.

Z całym przekonaniem stwierdzam, że rozprawa doktorska Pana mgr. Tomasza Wasilewskiego spełnia wszystkie wymogi merytoryczne i formalne stawiane dysertacjom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (tekst jednolity Dz. U. z 2017 r. poz. 1789 z późn. zm.) z uwzględnieniem art. 179 ust. 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1669). Na tej podstawie, wnoszę do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr. Tomasza Wasilewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, doceniając wysoki poziom zrealizowanych przez Doktoranta badań, wnioskuję o wyróżnienie niniejszej rozprawy doktorskiej (załącznik nr 1).


Katedra Technologii Postaci Leku
(Bifarmacji) UJCM
dr hab. Anna Krupa
Adiunkt

dr hab. Anna Krupa

Anna Krupa

Dr hab./Adiunkt

Imię i nazwisko doktoranta: mgr. Tomasz Wasilewski

Tytuł pracy doktorskiej: *Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy czujników zapachu*

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszym zwracam się z wnioskiem do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

Podstawę opiniowanej rozprawy doktorskiej stanowi cykl wartościowych, spójnych tematycznie, pięciu artykułów, opublikowanych w renomowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym (JCR). Prace mają charakter interdyscyplinarny. Ich tematyka jest ukierunkowana na wyjaśnienie zjawisk podstawowych, niezbędnych do skutecznego rozwoju sztucznych narządów zmysłów. Opisane wyniki w sposób istotny, poszerzają obecny stan wiedzy w obszarze projektowania peptydowych bioczujników zapachu.

Aktualność podjętej tematyki oraz wysoką jakość publikacji, odzwierciedlają wysokie wartości parametrów scjentometrycznych. Sumaryczny współczynnik oddziaływania opiniowanych artykułów wynosi 25,179. Na prace poglądowe przypada 15,911 (średni IF = 7,956), natomiast prace oryginalne stanowią 9,268 (średni IF = 3,089). Czasopisma, w których opublikowano artykuły, znajdują się na liście *Journal Citation Reports (JCR)* w kwartylach Q1-Q2. We wszystkich pracach Doktorant jest autorem pierwszym i korespondencyjnym, a jego wiodący wkład w powstanie opiniowanego cyklu publikacji nie budzi wątpliwości.

Katedra Technologii Postaci Leku
i Biofarmacji UJCM

dr hab. Anna Krupa
Adiunkt